剛毛獼猴桃對於中樞神經系統之藥理學研究

謝明村、蔣妍芬、蔡輝彥
中國醫藥學院　中國藥學研究所

前　　言

在多變的工商社會中，工作的繁忙與複雜的人際關係等因素，常形成現實壓力，造成生活步調混亂，情緒緊張，精神焦慮，因而失眠患者與日劇增。長期失眠輕則影響工作效率，重則造成精神崩潰。目前臨床上常用治療失眠之藥物，如Benzodiazepine　雖有療效，但長期服用後容易發生 嗜睡、健忘與耐藥性等副作用(Domino)。因此如何尋找治療失眠且副作用低之藥物，乃成爲各先進國家急於解決之課題。

剛毛獼猴桃(Actinidia chinensis Planch. var. setosa Li)爲獼猴桃藥材來源植物之一，爲獼猴桃科獼猴桃植物的同屬異種，主產於臺灣，爲臺灣固有種植物。獼猴桃首載於宋、開寶本草，其果實可「止暴渴，解煩熱，下破痢」(唐愼微，　1976)，然其根莖在中醫藥典籍雖未記載其主治，民間常用其根部治療肝炎，現代藥理學研究顯示，獼猴桃根部具止痛，消炎之作用；然莖民間則用於失眠症之治療，而迄今未見有相關其莖部之藥理研究報告。因此本研究擬針對剛毛獼猴桃莖部之乙醇粗抽取物與其氯仿層、乙酸乙酯層、正丁醇層、水層等各分層之鎮靜、鎮痛、抗痙攣、抗浮腫等作用加以探討，並進一步了解其作用機轉，俾能有助於臺灣藥用植物資源之開發。

材料及方法

一、剛毛獼猴桃莖部之採集

本實驗所使用剛毛獼猴桃之莖部係採集自南投縣翠峰山區，經鑑定爲獼猴桃科(Actinidiaceae)植物剛毛獼猴桃(Actinidia chinensis Planch var.setosa　Li)之莖部(簡稱AC)。

二、剛毛獼猴桃莖部之抽取與分離

將剛毛獼猴桃莖部洗淨、陰乾後切片，以50％乙醇浸泡72小時後，用紗布過濾，收集濾液，如此反覆五次，合併濾液，再經減壓濃縮至乾，即得剛毛獼猴桃莖50％乙醇粗抽取物(簡稱EtOH ext.)。

將剛毛獼猴桃莖50％乙醇粗抽取物以氯仿萃取四次，合併氯仿萃取液，再減壓濃縮至乾燥，即得氯仿層萃取物(簡稱$CHCl_3$ ext.)，水層部分再以乙酸乙酯萃取四次，合併萃取液，減壓濃縮至乾，得乙酸乙酯層萃取物(簡稱EtOAc ext.)，水層部分以正丁醇萃取之，將萃取液減壓濃縮至乾燥，即得正丁醇層萃取物(簡稱n-BuOH ext.)及水層萃取物(簡稱H_2O ext.)。

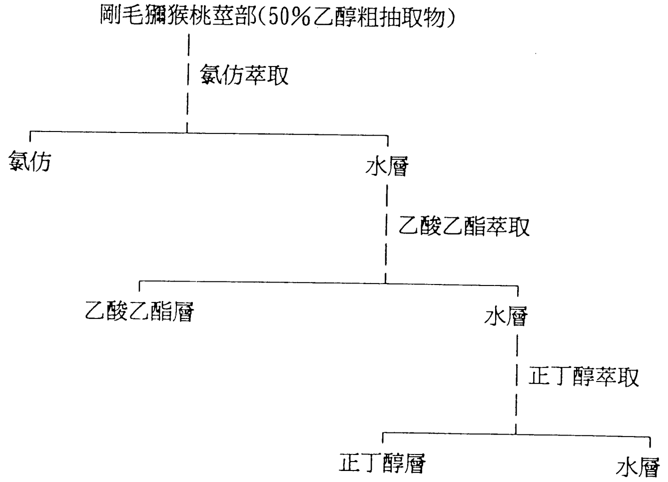

Fig 1．剛毛獼猴桃莖部萃取流程圖

本實驗所用剛毛獼猴桃粗抽取物及萃取物，投藥時除水層直接溶於蒸餾水外，其餘均加入數滴Tween-80助溶，再以蒸餾水配製而成。

三、實驗試藥

pentylenetetrazol, strychnine nitrate, picrotoxin, α-methyl-p-tyrosine methyl ester HCl (α-MT), apomorphine (APO), 5-hydroxytryptophan (5-HTP), dl-p-chlorophenylalanine (PCPA), muscimol (MUS), carrageenin。(sigma)

hexobarbital sodium（日本東京化成工業），baclofen (BAC, 日本第一製藥）。

四、實驗動物

1. ICR系雄性小鼠，體重20～25公克。

2. Sprague-Dawley系雄性大鼠，體重200～250公克。

五、急性毒性試驗：

將剛毛獼猴桃莖部乙醇粗抽取物及其各層萃取物分別經由口服或腹腔注射投藥給與小鼠，連續觀察72小時，記錄中毒死亡情形，依Litchfield and Wilcoxon氏方法(Litchfield & Wilcoxon, 1949)，求得使實驗動物一半死亡的劑量及其95％可信限。

六、對hexobarbital誘發的睡眠時間之影響(高木敬次郎 & 小澤光， 1978)：

剛毛獼猴桃莖乙醇粗抽取物及其各層萃取物以不同劑量(0.1 g/kg, 0.5g/kg, 2.5 g/kg) 口服給于ICR雄性小鼠，於給藥60分鐘後，腹腔注射hexobarbital(100 mg/kg)，誘發睡眠，觀察記錄從注射hexobarbital後至小鼠之正向反射(righting reflex)消失時間(onset)及從正向反射消失至恢復的時間(sleeping time, duration)。對照組給vehicle。

七、對自發運動量之影響：

運動量之測定是使用動物運動量測定裝置(MK-ANIMEX Activity Meter Model SE, Muromachi kikai Co., Ltd. Japan)，敏感度定爲35 μ A, 記錄大鼠經給予不同藥品後之各種活動行爲變化，包括走動、站立、整飭、嗤鼻等。使用體重200～250g雄性大鼠，分別以0.1 g/kg，0.5 g/kg，2.5 g/kg劑量口服給予剛毛獼猴桃莖乙醇粗抽取物及各層萃取物後55分鐘放入此裝置內適應，待5分鐘後開始記錄，觀察並連續記錄2小時，每組6隻。實驗時間爲上午八時至下午六時。對照組給vehicle。

八、對小鼠肌肉鬆弛之影響：

以懸垂法(Traction test)試驗，使用直徑1mm, 高約30cm之水平鐵絲，將小鼠前肢掛在鐵絲上，在5秒內能至少一側後肢鉤上鐵絲者，選供做本實驗。經口服給與不同劑量(0.1 g/kg，0.5 g/kg，2.5 g/kg)之剛毛獼猴桃粗抽取物及其各層萃取物後，每間隔30分鐘測試一次，共測四次，記錄後肢鉤上鐵絲所需之隻數。對照組給vehicle。

九、對中樞神經興奮劑引起的痙攣之影響(高木敬次郎 & 小澤光，1978):

剛毛獼猴桃莖乙醇粗抽取物及各層萃取物以不同劑量(0.1 g/kg，0.5 g/kg，2.5g/kg)口服給于ICR雄性小鼠，於給藥60分鐘後，再給各種中樞神經興奮劑：strychnine(2 mg/kg，i.p.)，picrotoxin(10 mg/kg，s.c.),pentylenetetrazol (120 mg/kg，i.p.), 觀察記錄誘發小鼠陣發性痙攣(clonic seizure)的時間及陣發性痙攣至強直性痙攣(tonic seizure)的時間（即死亡的時間）。對照組給vehicle。

十、抗浮腫試驗

使用體重200～250公克大鼠，以plethymometer 測其右後掌體積，SD雄性大鼠分別口服給予不同劑量(0.1 g/kg，0.5 g/kg，2.5 g/kg)之剛毛獼猴桃乙醇粗取物及各層萃取物，一小時後，以1％ carrageenin 於大鼠右後腳掌皮下注射，以誘發浮腫，再經一小時後，測其右後腳掌體積，以後每一小時測一次，連續測四次。比較組給予vehicle。

十一、鎮痛試驗(高木敬次郎 & 小澤光，1978):

(1)熱板法：使用體重20～25公克之ICR雄性小鼠，將小鼠放置於實驗箱的定溫板上(55±0.5℃)，外罩以透明壓克力圓筒。實驗前，首先測出給藥前之反應時間(reaction time)，經5分鐘後，再測之，二次反應時間差在5秒以內者篩選作此項實驗。

剛毛獼猴桃莖乙醇粗取物及各層萃取物分別以不同劑量(0.1 g/kg，0.5g/kg，2.5 g/kg)口服給于ICR雄性小鼠，於給藥後每間隔30分鐘，將小鼠置於上述熱板上，測其開始有痛反應所需的時間，共測120分鐘。其判讀標準爲舔後腳，縮後肢或跳躍等。對照組給vehicle。

(2)醋酸法：剛毛獼猴桃莖乙醇粗取物及各層萃取物分別以不同劑量(0.1 g/kg，0.5g/kg，2.5 g/kg) 口服給于ICR雄性小鼠，於給藥後一小時後，由腹腔注射1％Acetic acid(給藥量0.1ml/10g)，觀察並記錄小鼠注射5分鐘後之重覆肌肉收縮及所伴隨之後肢伸張次數(writhing response)，連續記錄十分鐘。對照組給vehicle。

十二、對改變腦內catecholaminergic system之物質所引起自發運動量之影響：

將剛毛獼猴桃莖水層萃取物(0.5 g/kg，p.o.)60分鐘前給予，再與下述物質分別併用，依前法（方法七），于測定前5分鐘將大鼠移入運動量測定裝置適應，待5分鐘後開始記錄，觀察並連續記錄2小時。對照組給vehicle。

本實驗所使用於改變腦內catecholaminergic system物質的劑量及時間分別爲： APO (0.3 mg/kg，s.c.)10分鐘前給于，需於使用前新鮮配製(Montanaro et al., 1983)；α-MT(50 mg/kg，i.p.)2小時前給藥。

十三、對改變腦內serotonergic system之物質所引起自發運動量之影響：

將剛毛獼猴桃莖水層萃取物(0.5 g/kg，p.o.) 60分鐘前給予，再與下述物質分別併用，依前法（方法七），于測定前5分鐘將大鼠移入運動量測定裝置適應，待5分鐘後開始記錄，觀察並連續記錄2小時。對照組給vehicle。

本實驗所使用於改變腦內serotonergic system 物質的劑量及時間分別爲：5-HTP(50 mg/kg，i.p.)30分鐘前給藥。PCPA(200 mg/kg，i.p.)24小時前給藥。

十四、對改變腦內GABAergic system之物質所引起自發運動量之影響：

將剛毛獼猴桃莖水層萃取物(0.5 g/kg，p.o.)60分鐘前給予,再與以下物質併用:baclofen (0.5 mg/kg，i.p.)10分鐘前給予；muscimol (0.3 mg/kg，i.p)10分鐘前給予；picrotcxin (1.5 mg/kg，i.p.)10分鐘前給予。（依方法七），于測定前5分鐘將大鼠移入運動量測定裝置適應，待5分鐘後開始記錄，觀察並連續記錄2小時。對照組給vehicle。

十五、對GABAergic system之物質所引起鎮痛之影響：

(1)剛毛獼猴桃莖水層萃取物分別以不同劑量(0.1 g/kg，0.5 g/kg，2.5g/kg) 口服給于ICR雄性小鼠，並與下述物質分別併用，於給藥後每間隔30分鐘，以方法十一之熱板法測其開始有痛反應所需的時間，共測120分鐘（共記錄四次）。另於給剛毛獼猴桃莖水層萃取物一小時後，並與下述物質分別併用，再以方法十一之醋酸扭體法觀察並記錄小鼠重覆肌肉收縮及所伴隨之後肢伸張次數(writhing response)，連續記錄10分鐘。

本實驗所併用改變GABAergic system物質的時間及劑量分別爲：BAC(0.5 mg/kg，i.p.) 30分鐘前給予(Aley & Kulkarni，1991)，MUS(0.5 mg/kg，i.p.)30分鐘前給予(Laviola & Alleva，1990)。

十六、統計學分析：

本實驗所有結果的數據，均以oneway-ANOVA分析變異數，再以Duncan's multiple range test 檢定其間差異的顯著性，凡P值小於0.05以下時，則認爲有統計意義。

實驗結果

一、急性毒性試驗：

剛毛獼猴桃莖各層粗萃取物對於小鼠經口服或腹腔給藥後，觀察其中毒症狀。起初小鼠之活動性減低，數分鐘後腳步不穩，眼睛半閉，劑量加大時，呼吸加速後轉呈減緩，耳朵蒼白，尾部呈暗色，死亡前劇烈跳動。

給藥後使小鼠在72小時內死亡之劑量(LD_{50})及其95％可信限，如表1所示。剛毛獼猴桃莖粗抽取物及各層萃取物口服毒性不大，腹腔注射則以水層毒性最低。

二、對hexobarbital所誘發睡眠時間之影響：

如表2所示，對於hexobarbital所誘發之睡眠時間，以乙醇粗抽取物、氯仿層與水層延長睡眠時間最顯著。

三、對自發運動量之影響

如表3所示，剛毛獼猴桃莖乙醇粗抽取物及氯仿層，正丁醇層及水層萃取物均可減低大鼠自發運動量，其中以水層萃取物降低自發運動量之效果較強。

四、對小白鼠協調運動、肌肉鬆弛之影響：

如表4所示，由懸垂法獲知剛毛獼猴桃莖乙醇粗抽取物並無肌肉鬆弛作用。

五、對中樞神經興奮劑引起痙攣之影響：

實驗結果如表5所示，剛毛獼猴桃莖乙醇粗抽取物對中樞神經興奮劑引起的痙攣祇能延長Pentylenetetrazol的tonic convulsion時間。各分層中以水層之抗痙攣效果較強。

六、抗浮腫實驗：

如表6所示，對於Carrageenin所誘發之浮腫，在120分鐘時，以剛毛獼猴桃乙醇粗抽取物及水層萃取物具有輕微抗浮腫作用。

七、鎮痛作用：

(1)熱板法(Hot plate method)：

如表7所示，剛毛獼猴桃莖乙醇粗萃取物及其氯仿層及水層萃取物均可延長對熱刺激所產生的痛反應時間，其中以水層的延長作用最強。

(2)醋酸法(1 % Acetic acid solution)：

如表8所示，剛毛獼猴桃莖乙醇粗萃取物及其水層萃取物均可減少小鼠由化學刺激法所引起疼痛之扭動次數。

八、對改變腦內Catecholaminergic system之物質所引起自發運動量之影響：

(1)如圖1所示，α－MT(50 mg/kg，i.p.)單獨給藥，可顯著降低大鼠自發運動量；當與剛毛獼猴桃莖水層萃取物(0.5 g/kg，p.o.)併用後，對其自發運動量抑制並無影響。

(2)如圖2所示，Apomorphine (0.3 mg/kg，s.c.)單獨給藥，可顯著增加大鼠自發運動量；當與剛毛獼猴桃莖水層萃取物(0.5 g/kg，p.o.)併用後，對其自發運動量增加並無影響。

九、對改變腦內Serotoergic system之物質所引起自發運動量之影響：

(1)如圖3所示，5-HTP(50 mg/kg，i.p.)單獨給藥可使自發運動量減少；與剛毛獼猴桃莖水層萃取物(0.5 g/kg，p.o.)併用後，其運動量降低作用更顯著。

(2)如圖4所示，PCPA(200 mg/kg, i.p.)單獨給藥時，可引起大鼠自發運動增加；當與剛毛獼猴桃莖水層萃取物(0.5 g/kg, p.o.)併用後，可明顯抑制其自發運動量增加現象。

十、對改變腦內GABAergic system之物質所引起自發運動量之影響：

(1)如圖5所示，Beclofen(0.5 mg/kg, i.p.)單獨給藥，可使大鼠自發運動量減少，與剛毛獼猴桃莖水層萃取物(0.5 g/kg, p.o.)併用後，可顯著增強其自發運動量抑制現象。

(2)如圖6所示，Muscimol(0.3 mg/kg, i.p.)單獨給藥，可使大鼠自發運動量減少，與剛毛獼猴桃莖水層萃取物(0.5 g/kg, p.o.)併用後，對其自發運動量抑制並無影響。

(3)如圖7所示，Picrotoxin(1.5 mg/kg，i.p.)單獨給藥，可使大鼠自發運動量增加，與剛毛獼候桃莖水層萃取物(0.5 g/kg，p.o.)併用後，對其自發運動量抑制現象並無影響。

十一、對GABAergic system之物質所引起鎮痛之影響

(1)熱板法(Hot plate method)：

如表9所示，Baclofen(0.5 mg/kg)單獨給藥可延長小鼠對熱刺激所產生的痛反應時間，當與剛毛獼猴桃莖水層萃取物(0.5 g/kg)併用後，對其痛反應時間的延長作用更顯著。

如表10所示，Muscimol(0.5 mg/kg)單獨給藥可延長小鼠對熱刺激所產生的痛反應時間，當與剛毛獼猴桃莖水層萃取物(0.5 g/kg)併用後，對其痛反應時間的延長作用無影響。

(2)醋酸法

如圖8所示，Baclofen (0.5 mg/kg)單獨給藥可減少小鼠對化學刺激法所產生的痛反應扭體次數，當與剛毛獼猴桃莖水層萃取物 (0.5 g/kg)併用後，對其痛反應扭體次數有明顯的抑制

作用。

如圖9所示，muscimol (0.5 mg/kg) 單獨給藥可減少小鼠對化學刺激法所產生的痛反應扭體次數，當與剛毛獼猴桃莖水層萃取物(0.5 g/kg) 併用後，對其痛反應扭體次數無影響。

討　　論

剛毛獼猴桃 (Actinidia chinensis Planch. var. setosa Li) 其莖民間常用於失眠症之治療。初步研究結果顯示剛毛獼猴桃莖之乙醇粗抽取物與其氯仿層、乙酸乙酯層、正丁醇層、水層等各分層，口服毒性不大，且能顯著延長 hexobarbital 所誘發之睡眠時間，並可降低大鼠之自發運動量，更由肌肉鬆弛試驗 (Traction test) 發現其不具肌肉鬆弛作用，由此顯示剛毛獼猴桃莖乙醇粗抽取物之運動量降低作用不受肌肉鬆弛之影響。

Strychnine, pentylenetetrazol, picrotoxin 三者爲常用於誘導痙攣之藥物。strychnine 主要作用於 spinal cord，能阻斷突觸後抑制，爲 glycine 拮抗劑 (Johnston, 1985)；pentylenetetrazol 則直接作用於細胞膜 (Esplin & Curto, 1985)，縮短突觸之乏興奮期，主要作用部位則位於 MRF(Mesencephalic reticular formation)，爲 GABA 拮抗劑 (Velasco et al.,1983)；picrotoxin 主要作用於腦幹，可阻斷突觸前抑制，亦爲 GABA 拮抗劑 (Tanaka, 1955)。剛毛獼猴桃莖乙醇粗萃取物對 strychnine, picrotoxine 所引起之痙攣並無影響，但可明顯延長 pentylenetetrazol 所引起 tonic convulsion 的時間。在各層萃取物方面亦僅正丁醇層和水層可明顯延長 pentylenetetrazol 所誘發之 tonic convulsion 時間，由此可知其抗痙攣作用可能與興奮 GABAergic postsynaptic 之作用有關。

Carrageenin 誘發發炎過程中，隨時間之不同而有不同之媒介物質釋放，Carrageenin 注射後，前90分鐘 histamine 及 serotonin 先行釋放出來，而在90-150分鐘則與 kinins 有關，在150分鐘以後則與 prostaglandins 及 leukotrienes 之釋放有關，此外中樞神經系統單胺類傳遞物質 (如 norepinephine, serotonin) 對 Carrageenin 誘發發炎之過程亦具有調節之作用 (Vinegar et al., 1969)。實驗結果發現僅剛毛獼猴桃莖粗抽取物及水層對於 Carrageenin 所誘發之足蹠浮腫於120分鐘時有明顯之抗浮腫作用，據此推論其抗浮腫作用可能與抑制 kinins 之釋放有關。

熱板法是利用一定的溫度刺激小鼠腳掌，測定藥物對小鼠產生痛反應時間之影響，結果顯示，剛毛獼猴桃莖乙醇粗抽取物可提升痛之閥值，延長產生痛的反應時間。而醋酸法則是利用化學物質刺激腹腔產生疼痛而扭曲腹部，是篩選周邊鎮痛藥物的方法之一，剛毛獼猴桃莖乙醇粗抽取物亦可減少其誘發扭體次數。在各分層部分則僅水層具顯著之鎮痛作用。

由上述實驗結果顯示剛毛獼猴桃莖乙醇粗抽取物具鎮靜、鎮痛、抗痙攣、抗發炎等作用，而其各分層中則僅有水層兼具上述作用，可能即爲剛毛獼猴桃莖乙醇粗抽取物活性成份所在之分層，故本研究進一步探討剛毛獼猴桃水層萃取物之鎮靜、鎮痛作用機轉。

由於動物行爲與中樞神經傳遞物質，如 chatecholamine、serotonin、GABA 等均有密切關係。因此本實驗併用一些能改變中樞神經傳遞物質而引起自發運動量變化之物質，進一步瞭

解剛毛獼猴桃水層萃取物之鎮靜作用與中樞神經傳遞物質之關聯性。

APO爲dopamine接受器之致效劑，可使大鼠自發運動量增加，剛毛獼猴桃莖水層萃取物對APO所誘發之自發運動量興奮作用並無抑制之作用。α-MT爲catecholamine生合成途徑中tyrosine hydroxylase之抑制劑(Spector et al., 1965)，能阻斷tyrosine轉化爲dopa (Widerlov & Lewander, 1978)，干擾catecholamines(DA、NE)之合成(Thornburg & Moore, 1973)，降低catecholaminergic system活性，使大鼠自發運動量減少；當剛毛獼猴桃莖水層萃取物對α-MT所誘發之自發運動量降低亦無協同作用。由此可知毛獼猴桃莖水層萃取物之鎮靜作用與catecholaminergic system無關。

5-HTP爲serotonin(5-HT)之前驅物質，能增加中樞serotonin之量，使自發運動量降低(Everett, 1974)，剛毛獼猴桃莖水層萃取物可增強5-HTP誘發的運動量抑制作用。PCPA乃是tryptophan hydroxylase抑制劑，可使腦內serotonin濃度降低，而使自發運動量增加(Kenneth & Weissman, 1966)，剛毛獼猴桃莖水層萃取物可拮抗PCPA所誘發的自發運動量興奮現象。顯示剛毛獼猴桃莖水層萃取物能增強serotonergic system之活性使運動量降低。

在中樞神經系統GABA receptors可分爲GABAA receptors與GABAB receptors (Matsumoto, 1989)；GABAA receptors主要與心臟血管的調節、抗焦慮及成年鼠之抗痙攣作用有關(Sperber et al., 1989)(Tirelli et al., 1991)，而GABAB receptors則與鎮痛、心臟血管的調節、抗憂鬱及幼鼠的抗痙攣作用有關。Muscimol爲GABAA receptors之致效劑，可減低大鼠自發運動量，且近年來有研究報告指出，muscimol與鎮痛作用有關。Picrotoxin一般歸類爲GABAA receptors之拮抗劑，與氯離子通道有關，可使自發運動量增加。Baclofen爲GABAB receptors之致效劑，可使大鼠之自發運動量降低。剛毛獼猴桃莖水層萃取物可明顯降低baclofen所誘發之自發運動量降低現象，而對picrotoxin誘發之自發運動量增加現象和muscimol所誘發之自發量降低現象則無作用。顯示剛毛獼猴桃莖水層萃取物運動量抑制作用與增強GABAergic system 之活性有關，其可能作用於GABAB recepter。

近年來有研究報告指出，以熱板法試驗28天大的老鼠發現muscimol可延長其舔腳反應時間，抑制cholecystokinin-like的釋放(Benoliel et al., 1992)；baclofen亦可延長痛的反應時間，減少醋酸扭體試驗時老鼠扭體之次數。剛毛獼猴桃莖水層萃取物對muscimol所產生之鎮痛作用並無影響，但對baclofen所產生之鎮痛作用則具協同之效果，顯示剛毛獼猴桃莖水層萃取物之鎮痛作用可能與增強GABAergic system活性有關。

綜合上述結果顯示，剛毛獼猴桃莖粗抽取物及水層萃取物具鎮靜、鎮痛、抗痙攣及抗浮腫作用，其活性成分可能分佈於水層萃取物中，而水層萃取物鎮靜、鎮痛之機轉則可能與增加serotonergic system和GABAergic system之活性有關。

誌　謝

本研究之完成，承蒙本學院之研究經費補助(82-018)，謹此致最高的謝忱。

引用文獻

—論 文—

1. Litchfield, J.T. and Wilcoxon F. 1949. A simplified methods of elevating dose effect experiment. J Pharmacol Exp Ther. 96 : 99-113.

2. Montanaro, N., Vaccheri, A., Dall', O.R. and Gandolfi O. 1983. Time Course of Rat Motility Response to Apomorphine : A Simple Model for Studying Preferential Blockade of Brain Dopamine Receptors Mediating Sedation. Psychopharmacology. 81 : 214-9.

3. Aley, K.O. and Kulkarni S.K. 1991. Baclofen Analgesia in mice : A GABAB Mediated Response. Methods Find Exp. Clin. Pharmacol. 13(10) : 681-6.

4. Laviola, G. and Alleva E. 1990. Ontogeny of muscimol effects on locomotor activity, habituation and pain reactivity in mice. Psychopharmacology. 102 : 41-8.

5. Velasco, F., Velasco, M. and Romo R. 1983. Push-pull perfusion of pentylenetetrazol in the brain stem of encephale isole cats. Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol. 56(5) : 521-27.

6. Tanaka, K. 1955. Studies on veratrum alkaloids. X.X. Actions of veratrum alkaloids upon the central nervous system of mice. J. Pharmacol. Exp. Ther. 113 : 89-99.

7. Vinegar, R., Schreiber, W. and Hugo R. 1969. Biphasic development of carrageenin edema in rats. J. Pharmacol. Exp. Ther. 166 : 96-103

8. Spector, S., Sjoerdsma, A. and Vdenfriend S. 1965. Blockade of endogenous norepinephrine synthesis by α-methyl-tyrosine, an inhibitor of tryosine hydroxylase. J. Pharmacol. Exp. Ther. 147 : 86～95.

9. Widerlov, E. and Lewander T. 1978 Inhibition of the in vivo biosynthesis and changes of catecholamine levels in rats brain after α-methyl-p-tyrosine : Time-and dose-response relationships. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 304 : 111-23.

10. Thornburg, J.E. and Moore K.E. 1973. Relative importance of dopaminergic and noradrenergic neuronal system for the stimulation of locomotor activity induced by amphetamine and other drugs. Neuropharmacology. 12 : 853-66.

11. Everett., G.M. 1974. Effect of 5-hydroxytryptophan on brain levels of dopamine, norepinephrine and serotonin in mice. Adv. Biochem. Psychopharmacol. 10 : 261-62.

12. Kenneth, K.B. and Weissman A. 1966. p-Chlorophenylalanine : a specific depletor of

brain serotoin. J. Pharmacol. Exp. Ther. 154(3)：499-516.

13. Matsumoto, R.R. 1989. GABA receptors：are cellular difference reflected in function ? Brain. Res. Rev. 14：203-25.

14. Sperber, E.F., Wurpel, J.N.D., Zhao, D.Y. and Moshe S.L. 1989. Evidence for the involvement of nigral GABAA receptors in seizures of adult rats. Brain. Res. 480：378-82.

15. Tirelli, E., Jodogne, C. and Perikel J.J. 1991. Adult-like biphasic neurobehavioral changes induced by a GABAA agonist in infant and weanling mice. Dev. Brain. Res. 61：207-15.

16. Benoliel, J.J., Bourgoin, S., Mauborgne, A., Pohl, M., Legrand, J.C., Hamon, M. and Cesselin F. 1992. GABA acting at both GABAA and GABAB receptors, inhibits the release of cholecystolcinin-like material from the rat spinal cord in vitro. Brain. Res. 590：255-62

—書—

1. Domino, E.F. Drugs for sleep disorders. In：Wingard, L.B., Brody, T.M., Larner, J. and Schwartz A. (Eds.)：Human Pharmacology, Molecular-to-Clinical. Mosby-Year Book. Inc. USA. pp 467-8.

2. 宋・唐慎微。1976。重修政和經史證類備用本草。南天書局。台北。卷二十三。第478頁。

3. Johnston, GAR. 1985. Neuropharmacology of amino acid inhibitory transmitter. In：Gilman, A.G., Goodman, L.S., Rall, T.W. and Murad F.(eds.). The Pharmacological Basis of Therapeutics 7th Edn. Macmillan Publishing Co. Inc. New. York. pp 582-5.

—多著者之書—

1. 高木敬次郎，小澤光。1978。中樞神經的藥理。藥物學實驗。南山堂株式會社。日本。第69頁。

2. 高木敬次郎，小澤光。1978。中樞神經的藥理。藥物學實驗。南山堂株式會社。日本。第64-5頁。

3. 高木敬次郎，小澤光。1978。中樞神經的藥理。藥物學實驗。南山堂株式會社。日本。第54-5頁。

4. Esplin, D.W. and Curto E.M. 1985. Effects of trimethadione on synaptic transmission in the spinal cord. Antagonism of trimethadion and pentylenetetrazol. In：Gilman, A.G., Goodman, L.S., Rall, T.W. and Murad F.(eds.). The Pharmacological Basis of Therapeutics 7th Edn. Macmillan Publishing Co. Inc. New York. pp 588.

附表及附圖

Table 1. LD_{50} and 95% confidence limits of A.C. extracts in mice.

Drugs	Route	LD50(g/kg)	(95%confidence limits)
EtOH ext.	P.O.	>10	
	I.P.	2.20	(1.82 - 2.67 g/Kg)
$CHCl_3$ ext.	P.O.	>10	
	I.P.	2.45	(1.70 - 3.54 g/Kg)
EtOAc ext.	P.O.	>10	
	I.P.	1.35	(1.04 - 1.67 g/Kg)
n-BuOH ext.	P.O.	>10	
	I.P.	1.50	(1.07 - 2.12 g/Kg)
H_2O ext.	P.O.	>10	
	I.P.	3.56	(3.25 - 3.90 g/Kg)

Table 2. Effect of A.C. extracts on the hexobarbital-induced hypnosis in mice.

Drugs	Dose(g/kg, p.o.)	Onset(min.)	Sleeping time(min)
Control	—	3.63±0.26	24.48±1.30
EtOH ext.	0.1	3.37±0.19	25.49±2.02
	0.5	3.63±0.24	39.28±2.50**
	2.5	3.53±0.19	62.12±1.48**
$CHCl_3$ ext.	0.1	3.62±0.09	27.10±1.32
	0.5	3.63±0.24	35.63±1.84**
	2.5	3.78±0.20	41.89±1.84**
EtOAc ext.	0.1	3.62±0.09	29.80±2.18
	0.5	3.68±0.15	28.63±2.58
	2.5	3.90±0.31	38.90±1.07**
n-BuOH ext.	0.1	2.93±0.22*	25.46±1.12
	0.5	3.26±0.20	25.47±1.92
	2.5	3.76±0.21	37.24±1.42**
H_2O ext.	0.1	3.17±0.10	30.78±1.71
	0.5	3.47±0.19	36.60±2.03**
	2.5	4.14±0.36	56.66±3.52**

Mean±S.E. (n=6)
Onset: righting reflex disappear.
Sleeping time: time of onset to righting reflex recover.
*$p<0.05$, **$p<0.01$, compared with control group (ANOVA for repeated measures followed by Duncan's multiple range test)

Table 3. Effects of A.C. extracts on the locomotor activity in rats .

Drugs	Dose (g/kg, p.o.)	30 min.	60 min.	90 min.	120min
Control	-	570.50±27.79	118.00±10.31	87.17±3.66	125.00±7.72
EtOH ext.	0.1	529.00±15.58	120.33±7.80	103.33±4.88*	118.00±6.84
	0.5	353.33±15.94**	103.33±2.28	57.67±4.39**	112.50±3.96
	2.5	326.50±7.22**	87.17±4.09**	74.17±4.00	104.33±2.09*
$CHCl_3$ ext.	0.1	583.00±16.21	117.33±5.73	92.17±2.92	110.67±5.47
	0.5	569.17±11.09	118.67±7.91	88.00±2.24	120.00±5.83
	2.5	497.00±11.44**	96.83±2.48	85.83±3.51	115.50±4.32
EtOAc ext.	0.1	559.50±20.96	121.50±7.88	90.17±2.90	116.00±3.84
	0.5	582.33±16.00	122.00±6.86	89.50±3.21	112.50±3.77
	2.5	584.00±18.81	106.67±3.43	89.67±2.87	114.67±4.59
n-BuOH ext.	0.1	592.33±12.74	111.00±3.13	88.00±2.84	115.33±5.89
	0.5	594.67±5.31	112.67±2.72	86.33±3.24	121.33±6.01
	2.5	462.17±14.59**	94.00±1.67	90.00±2.57	111.67±2.72
H_2O ext.	0.1	532.50±17.67	115.33±7.99	86.00±3.30	116.17±4.01
	0.5	381.33±5.33**	97.50±1.28	71.33±1.26	115.17±4.03
	2.5	386.50±5.42**	87.83±1.54**	69.17±1.45	111.67±6.45

Mean±S.E. (n=6)

*$p<0.05$, **$p<0.01$, compared with control group (ANOVA for repeated measures followed by Duncan's multiple range test)

Table 4. Effect of ethanol extract on traction performance in mice.

Drugs	Dose (g/kg) p.o.	No. of mice treated	No. of mice which fell within 5 seconds after drug administration			
			30	60	90	120 (min.)
Control	—	6	0	0	0	0
EtOH ext.	0.1	6	1	1	0	0
	0.5	6	1	1	1	0
	2.5	6	1	1	1	0

Table 5. Anticonvulsive effects of A.C. extracts in mice.

Induced drugs	Drugs	Dose (g/kg,p.o.)	C.C.(min.)	T.C.(min.)
Strychnine nitrate (2mg/kg)	Control		2.34±0.16	0.54±0.13
	EtOH ext.	0.1	2.23±0.19	0.64±0.08
		0.5	2.34±0.21	0.62±0.09
		2.5	2.38±0.04	0.49±0.06
Picrotoxin (10mg/kg)	Control		6.04±0.19	4.63±0.61
	EtOH ext.	0.1	6.22±0.20	4.99±0.34
		0.5	6.05±0.49	4.32±0.41
		2.5	5.45±0.18	3.81±0.70
Pentylene-tetrazol (120mg/kg)	Control		0.65±0.10	3.16±0.14
	EtOH ext.	0.1	0.71±0.17	2.82±0.69
		0.5	0.72±0.09	5.44±0.45**
		2.5	0.83±0.11	5.62±0.31**
	$CHCl_3$ ext.	0.1	0.71±0.12	3.14±0.20
		0.5	0.57±0.06	3.40±0.08
		2.5	0.70±0.09	3.45±0.08
	EtOAc ext.	0.1	0.64±0.14	3.71±0.24
		0.5	0.74±0.06	3.79±0.19
		2.5	0.60±0.12	3.81±0.21
	n-BuOH ext.	0.1	0.66±0.14	3.09±0.25
		0.5	0.43±0.11	3.13±0.19
		2.5	0.61±0.08	3.99±0.28*
	H_2O ext.	0.1	0.71±0.08	3.35±0.22
		0.5	0.69±0.08	4.40±0.26**
		2.5	0.57±0.11	4.77±0.29**

Mean±S.E. (n=6)

C.C.: Onset to clonic convulsion

T.C.: from time of C.C. to tonic convulsion

*$p<0.05$, **$p<0.01$, compared with control group (ANOVA for repeated measures followed by Duncan's multiple range test)

Table 6. Effects of A.C. extracts on Swelling of Rat Hind Paw induced by Carrageenin.

Drugs	Dose (g/kg, p.o.)	Swelling degree of Response (%) 60 min.	120 min.	180 min.	240min
Control	-	18.87±3.39	26.87±2.89	31.58±2.19	30.01±4.87
EtOH ext.	0.1	16.66±2.34	24.24±1.13	27.41±6.39	31.27±4.52
	0.5	20.50±1.76	20.21±3.04	27.02±3.04	26.38±2.51
	2.5	21.30±1.77	17.27±2.64*	23.03±2.34	25.42±2.03
$CHCl_3$ ext.	0.1	21.86±3.90	25.83±3.79	30.24±1.92	30.51±2.19
	0.5	21.40±1.62	29.64±3.52	32.79±1.59	33.32±2.07
	2.5	25.12±2.14	28.03±3.62	30.71±7.54	33.37±2.12
EtOAc ext.	0.1	21.23±2.39	30.71±0.64	28.42±2.76	34.56±1.54
	0.5	22.57±1.87	27.59±1.63	32.31±1.28	27.29±3.52
	2.5	22.81±3.39	27.62±3.91	26.51±3.66	31.47±5.09
n-BuOH ext.	0.1	20.70±3.72	26.14±2.19	32.56±3.78	30.43±2.22
	0.5	20.54±3.39	27.87±3.79	29.83±2.01	30.53±1.48
	2.5	20.57±1.91	26.02±4.57	26.42±0.73	30.67±3.32
H_2O ext.	0.1	20.64±2.02	25.71±2.53	31.61±2.19	35.31±3.36
	0.5	20.04±1.81	21.82±1.34	28.04±1.03	30.64±3.92
	2.5	19.03±1.92	15.87±2.01*	26.59±1.14	31.87±2.14

Mean±S.E. (n=6)

$$\text{Mean: } \frac{\text{volume of Postadministration} - \text{volume of Preadministration}}{\text{volume of Preadministration}} \times 100\%$$

*p<0.05, compared with control group (ANOVA for repeated measures followed by Duncan's multiple range test)

Table 7. Analgesic effect of A.C. extracts in mice (Hot plate method).

Drugs	Dose (g/kg, p.o.)	30 min.	60 min.	90 min.	120min
Control	-	-1.92±1.64	1.81±0.57	2.04±3.42	1.57±1.68
EtOH ext.	0.1	0.53±1.71	3.37±0.42	1.87±2.03	0.21±0.82
	0.5	2.11±1.10	10.43±1.73**	6.68±1.74	0.54±2.43
	2.5	1.92±0.84	13.87±1.64**	7.21±2.19	2.72±0.41
$CHCl_3$ ext.	0.1	-0.79±2.73	3.53±1.92	0.32±2.47	-1.69±5.34
	0.5	2.19±1.93	3.19±0.18	4.20±1.60	4.14±4.09
	2.5	1.61±1.04	4.38±1.42	4.43±2.24*	6.71±3.93
EtOAc ext.	0.1	-0.36±1.39	3.14±0.93	2.47±1.14	-0.82±2.84
	0.5	0.51±0.92	5.52±1.46	2.13±0.63	-0.14±2.42
	2.5	1.74±0.73	4.53±2.64	2.38±1.57	0.43±1.14
n-BuOH ext.	0.1	2.54±5.01	3.79±1.42	1.04±2.59	0.79±3.42
	0.5	4.03±3.32	4.13±2.30	1.63±2.51	0.24±2.03
	2.5	3.44±1.31	5.58±2.47	2.82±1.04	4.63±4.41
H_2O ext.	0.1	1.23±2.85	4.21±2.13	3.84±2.31	0.34±3.92
	0.5	0.47±2.52	12.42±1.74**	6.32±2.44	3.24±3.57
	2.5	2.41±3.34	14.01±1.92**	8.34±1.39	2.51±4.21

Mean±S.E. (n=6)

$$\text{Mean: } \frac{\text{Time of Postadministration} - \text{Time of Preadministration}}{\text{Time of Preadministration}} \times 100\%$$

*p<0.05, **p<0.01, compared with control group (ANOVA for repeated measures followed by Duncan's multiple range test).

Table 8. Analgesic effect of A.C. extracts on the acetic acid-induced writhing response in mice.

Drugs	Dose (g/kg, p.o.)	Total no. of writhing for 10min.
Control	-	41.83±1.45
EtOH ext.	0.1	39.20±2.29
	0.5	31.60±1.29**
	2.5	29.40±2.14**
$CHCl_3$ ext.	0.1	35.20±6.47
	0.5	39.80±2.22
	2.5	42.20±2.63
EtOAc ext.	0.1	42.40±2.99
	0.5	43.00±4.66
	2.5	42.00±2.86
n-BuOH ext.	0.1	43.60±2.14
	0.5	43.20±3.51
	2.5	35.80±2.44
H_2O ext.	0.1	38.60±2.69
	0.5	32.33±2.68**
	2.5	29.60±1.50**

Mean±S.E. (n=6)

**$p<0.01$, compared with control group (ANOVA for repeated measures followed by Duncan's multiple range test)

Table 9. Effect of water extract on the analgesic effect produced by baclofen (BAC, 0.5 mg/kg) in mice. (Hot plate method).

Treatment		30 min.	60 min.	90 min.	120min
Control		-1.92±1.64	1.81±0.57	2.04±3.42	1.57±1.68
H_2O ext.	0.1 g/kg	1.23±2.85	4.21±2.13	3.84±2.31	0.34±3.92
	0.5 g/kg	0.47±2.52	12.42±1.74	6.32±2.44	3.24±3.57
	2.5 g/kg	2.41±3.34	14.01±1.92	8.34±1.39	2.51±4.21
BAC	0.5 mg/kg	3.52±1.21	8.79±2.43	5.14±2.53	5.73±0.54
BAC+H_2O ext.	0.1g/kg	0.93±0.91	6.03±2.42	6.06±1.12	3.52±0.72
	0.5 g/kg	1.13±0.14	19.19±2.04**	11.34±0.83*	4.59±0.83
	2.5 g/kg	1.54±0.42	22.31±2.14**	11.72±1.31*	4.34±1.12

Mean±S.E. (n=6)

$$\text{Mean: } \frac{\textbf{Time of Postadministration} - \textbf{Time of Preadministration}}{\textbf{Time of Preadministration}} \times 100\%$$

*$p<0.05$, **$p<0.01$, compared with control group (ANOVA for repeated measures followed by Duncan's multiple range test)

Table 10. Effect of water extract on the analgesic effect produced by muscimol (MUS, 0.5 mg/kg) in mice. (Hot plate method).

Treatment		30 min.	60 min.	90 min.	120min
Control		-1.92±1.64	1.81±0.57	2.04±3.42	1.57±1.68
H_2O ext.	0.1 g/kg	1.23±2.85	4.21±2.13	3.84±2.31	0.34±3.92
	0.5 g/kg	0.47±2.52	12.42±1.74	6.32±2.44	3.24±3.57
	2.5 g/kg	2.41±3.34	14.01±1.92	8.34±1.39	2.51±4.21
MUS	0.5 mg/kg	6.53±1.52	8.52±0.74	6.53±1.82	4.13±0.92
MUS+H_2O ext.	0.1g/kg	1.52±2.73	10.61±2.23	3.94±1.14	1.82±0.24
	0.5 g/kg	2.84±3.21	12.34±1.41	6.32±0.83	3.06±1.03
	2.5 g/kg	3.09±2.34	13.63±2.02	9.31±2.19	3.24±1.21

Mean±S.E. (n=6)

$$\text{Mean: } \frac{\text{Time of Postadministration} - \text{Time of Preadministration}}{\text{Time of Preadministration}} \times 100\%$$

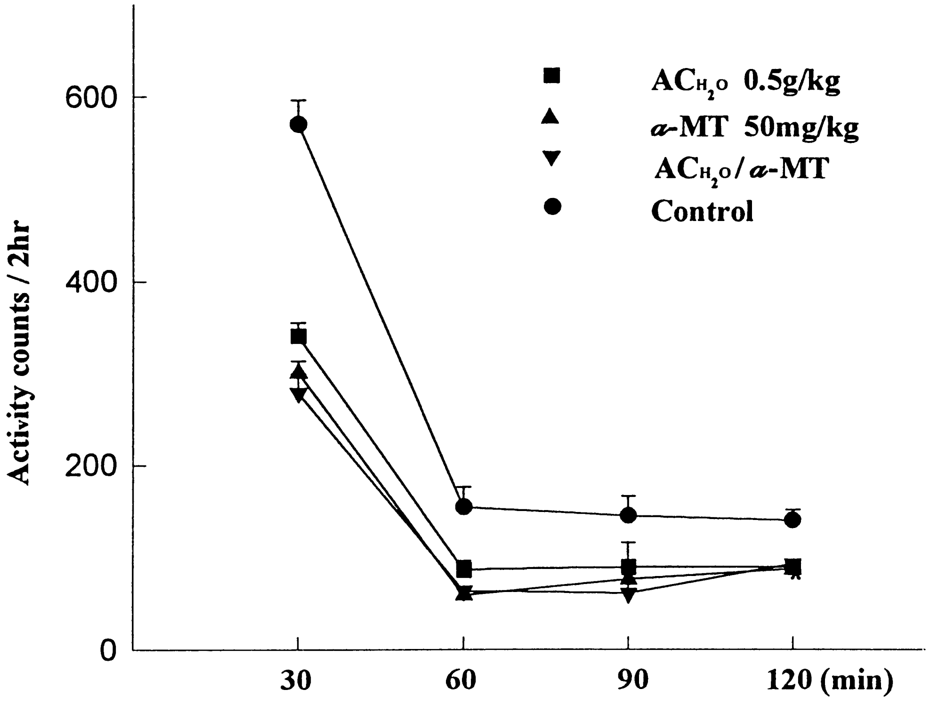

Fig 1: Effect of H_2O extract of A.C. on the changes in locomotor activity produced by α-MT in rats.
ACH2O= 0.5 g/kg H_2O extract of A.C. 1 hr prior to testing.
α-MT= 50 mg/kg α-methyl-p-tyrosine 2 hr prior to testing.
ACH2O/α-MT= H_2O extract of A.C. plus α-methyl-p-tyrosine.

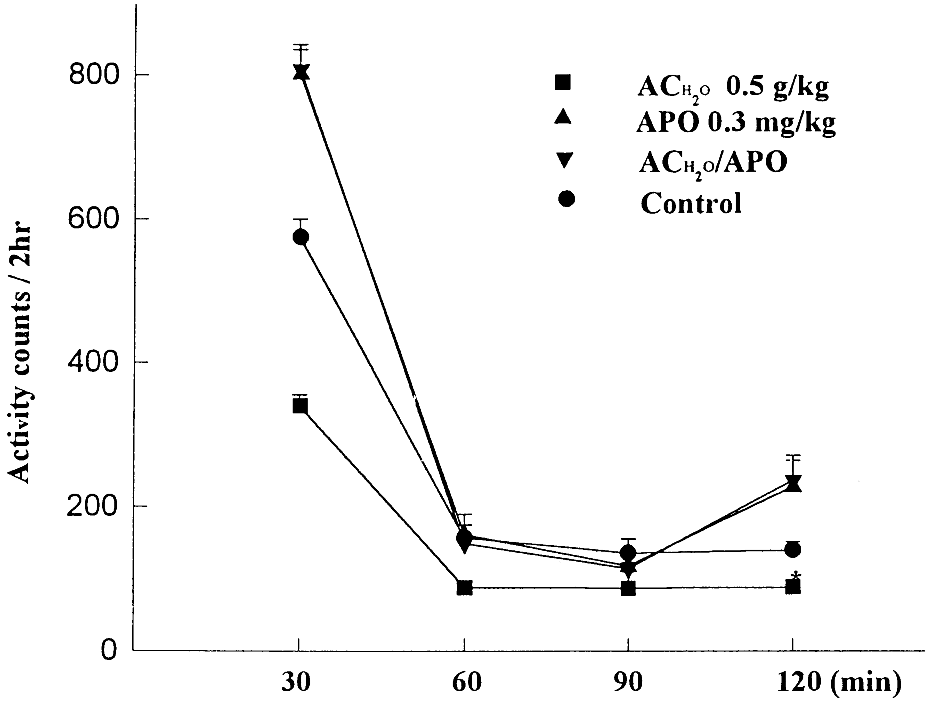

Fig 2. Effect of H_2O extract of A.C. on the changes in locomotor activity produced by apomorphine in rats.

AC_{H2O}= 0.5 g/kg H_2O extract of A.C. 1 hr prior to testing.

APO= 0.3 mg/kg apomorphine 10 min prior to testing.

AC_{H2O}/APO= H_2O extract of A.C. plus apomorphine.

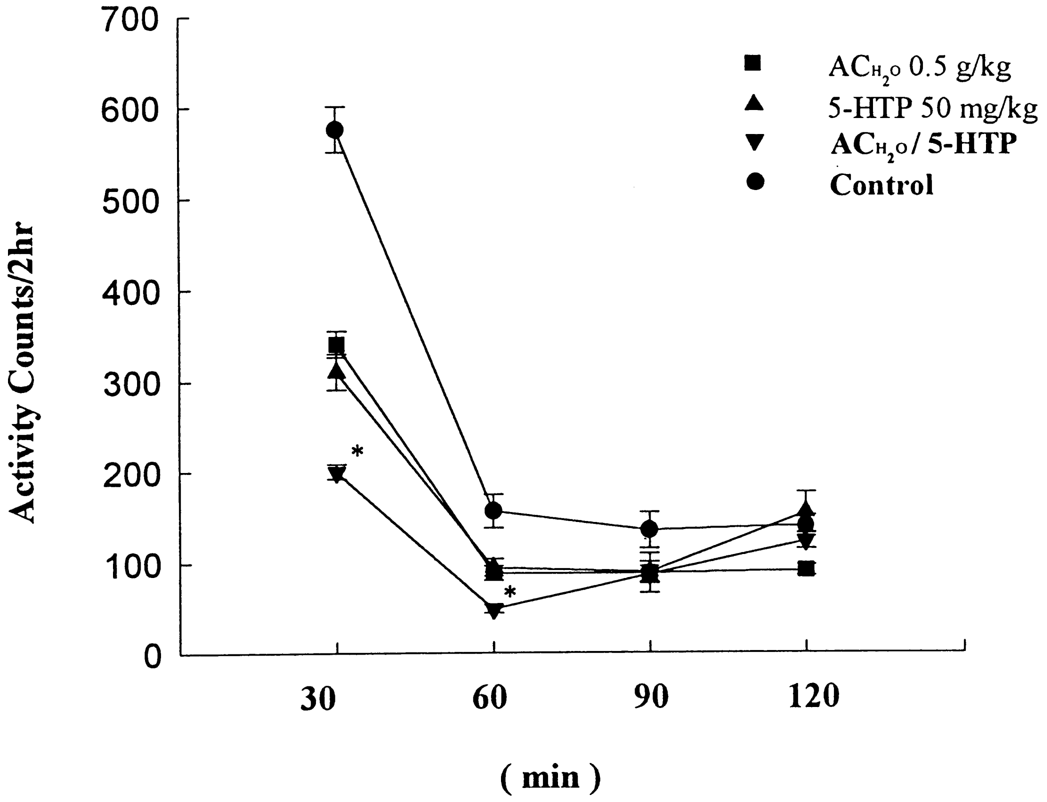

Fig 3. Effect of H_2O extract of A.C. on the changes in locomotor activity produced by 5-HTP in rats.
AC_{H2O} = 0.5 g/kg H_2O extract of A.C. 1 hr prior to testing.
5-HTP= 50 mg/kg 5-hydroxytrypotophan 30 min prior to testing.
AC_{H2O}/5-HTP= H_2O extract of A.C. plus 5-hydroxytrypotophan.
*$p < 0.05$, compared with 5-HTP group (ANOVA for repeated measures followed by Duncan's multiple range test; n=6)

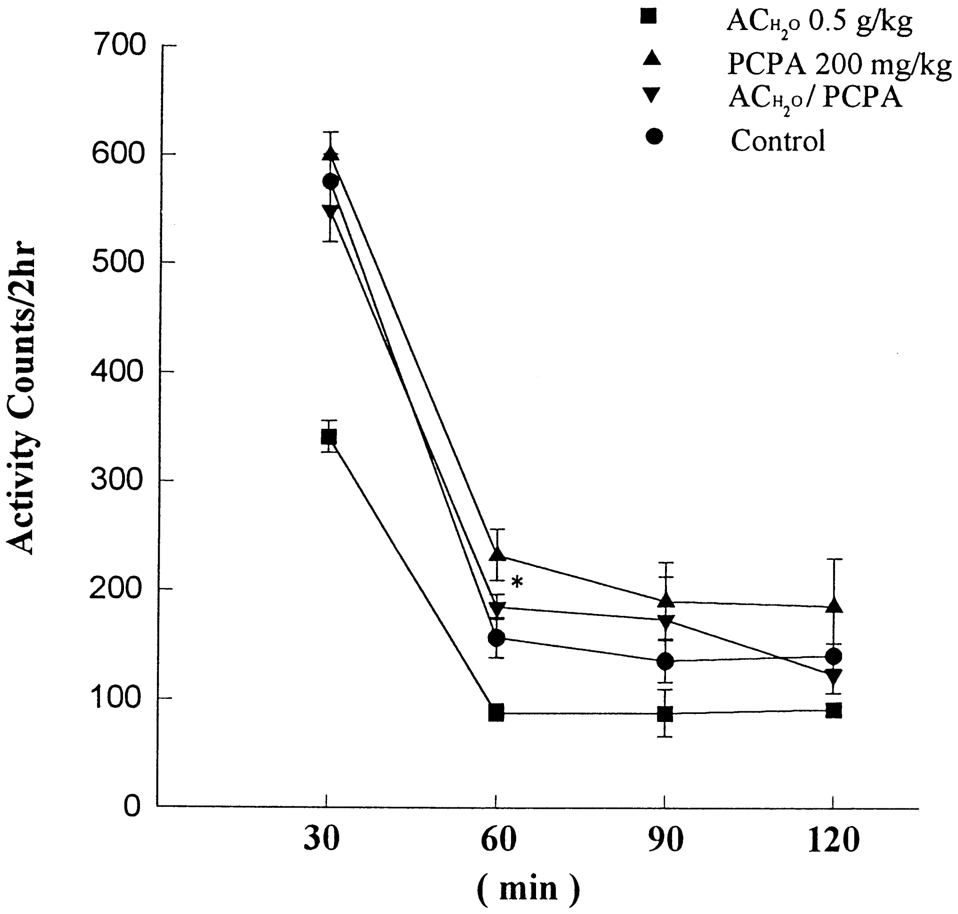

Fig 4. Effect of H_2O extract of A.C. on the changes in locomotor activity produced by PCPA in rats.

ACH2O = 0.5 g/kg H_2O extract of A.C. 1 hr prior to testing.

PCPA= 200 mg/kg dl-p-chlorophenylalanine 24 hr prior to testing.

ACH2O/PCPA= H_2O extract of A.C. plus dl-p-chlorophenylalanine.

*$p<0.05$, compared with PCPA group (ANOVA for repeated measures followed by Duncan's multiple range test ; n=6)

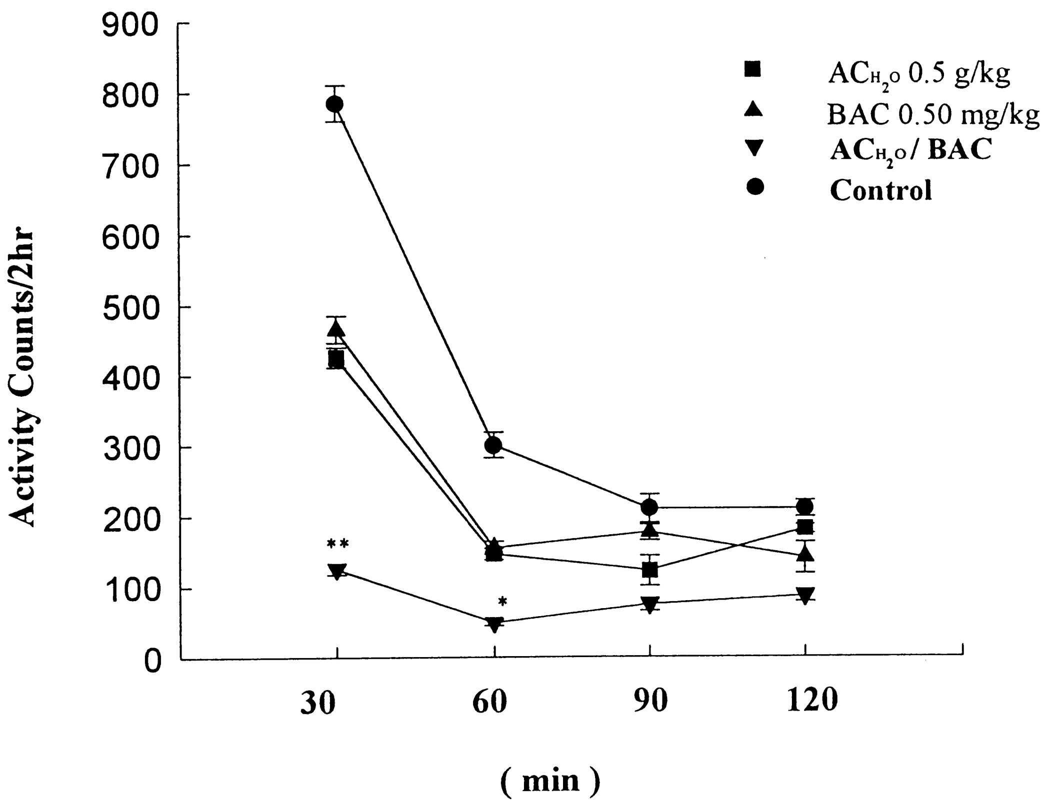

Fig 5. Effect of H_2O extract of A.C. on the changes in locomotor activity produced by Baclofen in rats·

ACH2O = 0.5 g/kg H_2O extract of A.C. 1 hr prior to testing.

Bac = 0.5 mg/kg baclofen 10 min prior to testing.

ACH2O/Bac= H_2O extract of A.C. plus baclofen.

*$p < 0.05$, **$p < 0.01$, compared with BAC group (ANOVA for repeated measures followed by Duncan's multiple range test; n=6).

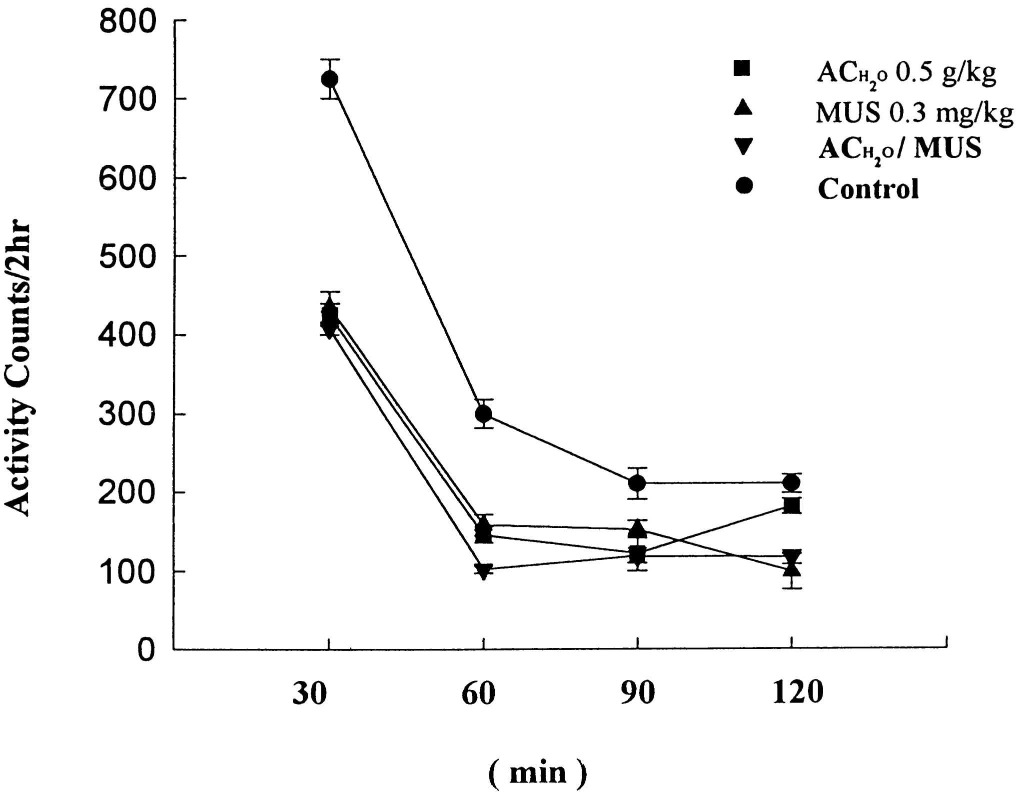

Fig. 6. Effect of H_2O extract of A.C. on the changes in the locomotor activity produced by muscimol in rats.
ACH2O = 0.5 g/kg H_2O extract of A.C. 1 hr prior to testing.
Mus = 0.5 mg/kg muscimol 10 min prior to testing.
ACH2O/Mus= H_2O extract of A.C. plus muscimol.

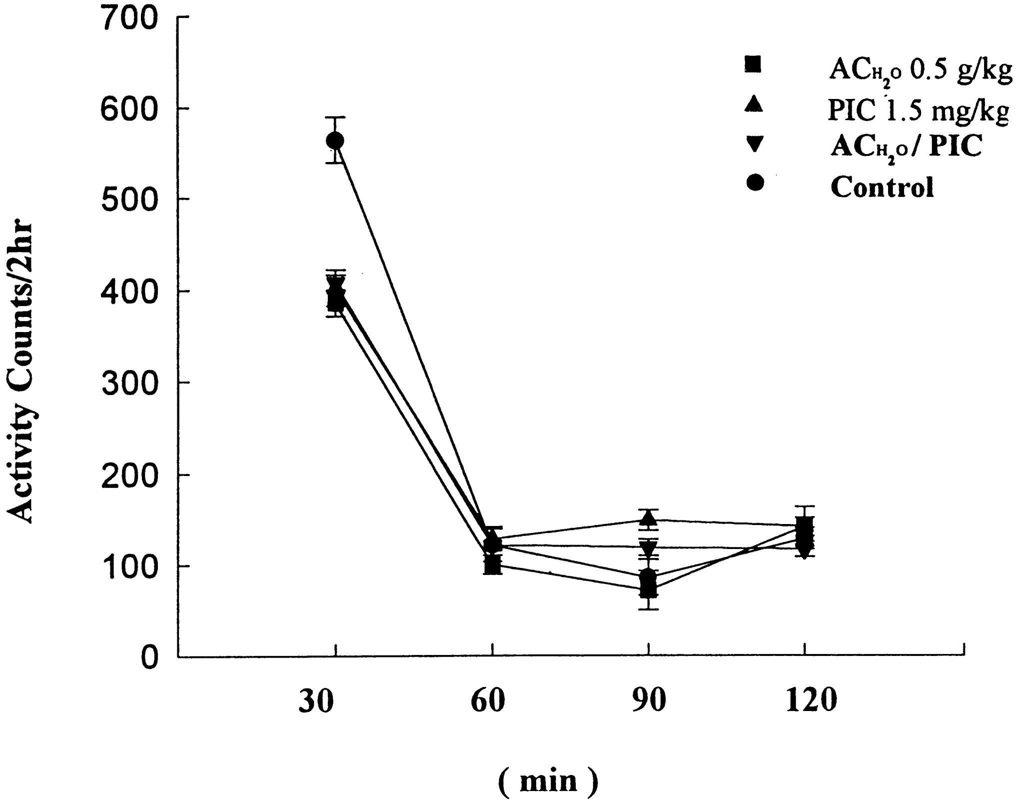

Fig. 7. Effect of H_2O extract of A.C. on the changes in locomotor activity produced by picrotoxin in rats.

ACH2O =0.5 g/kg H_2O extract of A.C. 1 hr prior to testing.

PIC =1.5 mg/kg Picrotoxin 10 min prior to testing.

ACH2O/PIC= H_2O extract of A.C. plus picrotoxin.

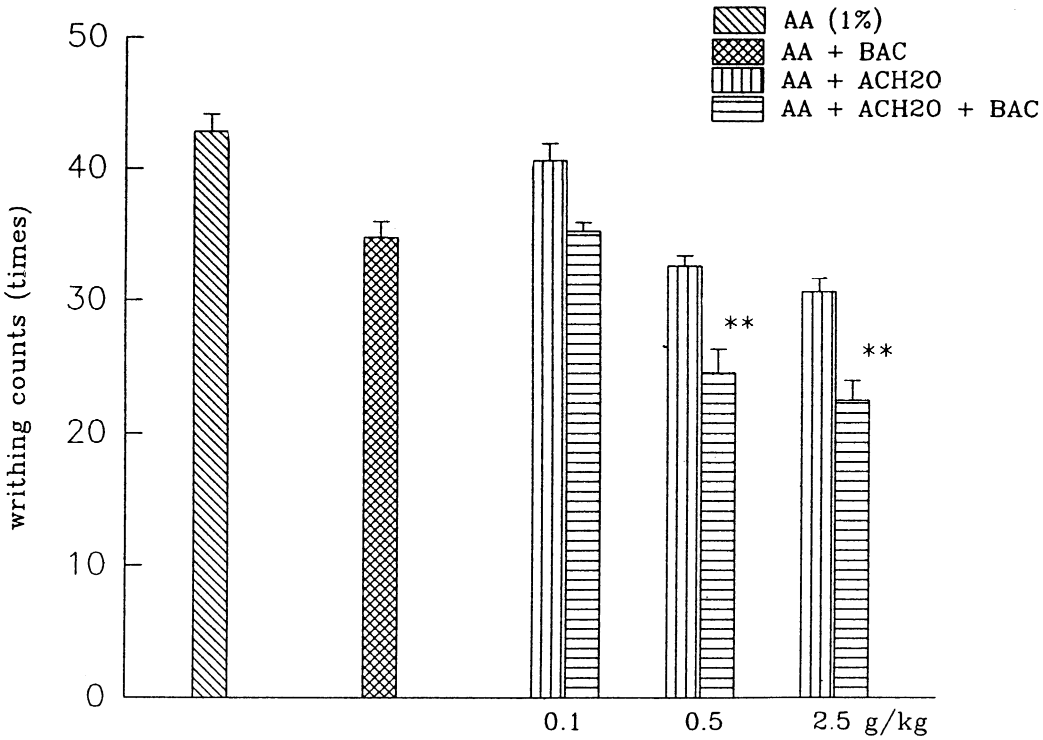

Fig 8. Effect of H_2O extract of AC and baclofen on the acetic acid-induced writhing response in mice.

AC_{H2O} = H_2O extract of AC 1 hr prior to testing.

BAC = baclofen 30 min prior to testing.

AA = Acetic acid.

AA + BAC = acetic acid plus baclofen.

AA + AC_{H2O} + BAC= acetic acid plus H_2O extract of AC plus baclofen

**p < 0.01, compared with BAC plus AA group (ANOVA for repeated measures followed by Duncan's multiple range test ; n=6)

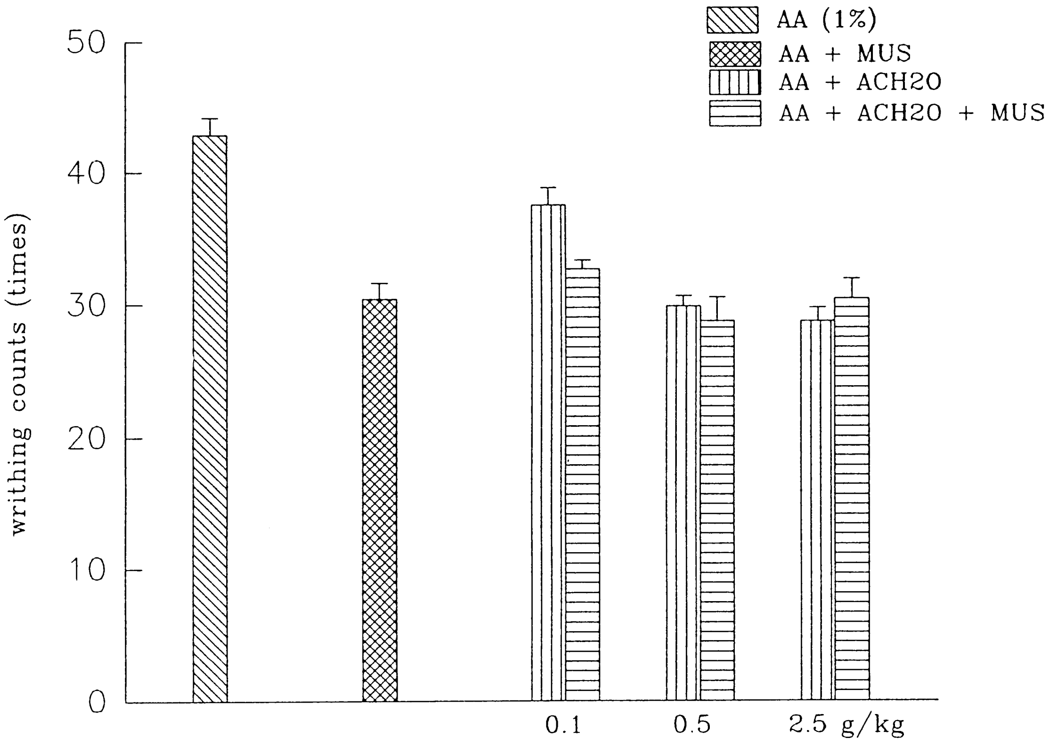

Fig 9. Effect of H_2O extract of AC and muscimol on the acetic acid-induced writhing response in mice.

AC_{H2O} = H_2O extract of AC 1 hr prior to testing.

MUS = muscimol 30 min prior to testing.

AA = Acetic acid.

AA + MUS = acetic acid plus muscimol.

AA+AC_{H2O}+MUS = acetic acid plus H_2O extract of AC plus muscimol.

The pharmarcological studies of Actinidiae chinensis Planch.var.setosa on the cetral nervous system

The stem of Actinida chinensis Planch.var.setosa(abbreviated as A.C.)was used for insomnia by Chinese traditional physicians. In this study, we used phytochemical and behavioral pharmacological methods to search the sedative compounds and to investigate their effects on the central nervous system.

All of the five extracts of A.C. had low toxicity, prolonged the sleeping time induced by hexobarbital in mice and reduced the locomotor activity in rats. The water extract had the strongest sedative effect than the other extracts. None of the five extracts showed muscle relaxant effect. Ethanol-n-butanol-, and water-extracts reduced tonic convulsion time induced by pentylenetetrazol. Both of ethanol extract and water extract inhibited the swelling volume of rat hind-paw induced by carrageenin, hot plate-induced pain response and acetic acid-induced writhing response. The water extract enhanced analgesic effect produced by baclofen. It potentiated the hypomotility produced by 5-HTP and baclofen. It also reduced the hypermotility produced by PCPA.

From these results, it was found that A.C.extracts had analgesic, sedative, anti-convulsive and anti-inflammatory effects. Ths water extract had the best analgesic and sedative effect. It might be involved in the increase in the serotonergic and GABAergic activities.

Key word : Actinida chinensis (A.C.), locomotor activity, water extract, serotonergic, GABAergic.